

**QUELQUES CONSIDÉRATIONS TECHNIQUES
SUR LA DÉTERMINATION
DE LA KALIÉMIE ET DE LA CALCÉMIE
CHEZ LES BOVINS
PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE DE FLAMME**

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 14 Juin 1961

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Guy MAHOY

Né le 25 Février 1936, au HAVRE (Seine-Maritime)



LYON

Imprimerie BOSC Frères
42, quai Gailleton, 42

1961

QUELQUES CONSIDERATIONS TECHNIQUES
SUR LA DETERMINATION
DE LA KALIEMIE ET DE LA CALCEMIE
CHEZ LES BOVINS
PAR SPECTRO-PHOTOMETRIE DE FLAMME

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 1961 — N° 36

**QUELQUES CONSIDÉRATIONS TECHNIQUES
SUR LA DÉTERMINATION
DE LA KALIÉMIE ET DE LA CALCÉMIE
CHEZ LES BOVINS
PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE DE FLAMME**

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 14 Juin 1961

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

PAR

Guy MAHOUY

Né le 25 Février 1936, au HAVRE (Seine-Maritime)



LYON

Imprimerie BOSC Frères
42, quai Gailleton, 42

1961

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Directeur	M. TAPERNOUX.
Directeur honoraire	M. JUNG.
Professeurs honoraires	} MM. DOUVILLE. CUNY.

PROFESSEURS

Physique et Chimie biologiques, Pharmacie, Toxicologie, Hygiène et Inspection du lait	MM. TAPERNOUX.
Anatomie descriptive, Anatomie appliquée	BARONE.
Physiologie, Pharmacodynamie, Thérapeutique, Matière médicale	BOST.
Histologie, Embryologie, Tératologie, Anatomie pathologique, Inspection des aliments d'origine animale	LUCAM.
Zoologie appliquée, Botanique appliquée, Parasitologie	EUZEBY.
Technique chirurgicale, Pathologie chirurgicale ..	COLLET.
Propédeutique, Sémiologie et pathologie des Monogastriques, des Oiseaux et Ruminants, Législation vétérinaire	FLORIO.
Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour	COTTEREAU.
Pathologie de la reproduction, Obstétrique	BERTRAND.
Pathologie générale et Microbiologie, Maladies légalement contagieuses et Police sanitaire ...	JOUBERT.
Agronomie, Economie rurale, Zootechnie générale et génétique, Ethnologie, Hygiène, Alimentation	JEAN-BLAIN.

CHEFS DE TRAVAUX

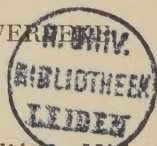
MM. MAGAT, FERNEY, FLACHAT, RUCKEBUSCH, Agrégés.
MM. BUSSIERAS, OUDAR.

Assistants : MM. CLAUDE, VAN HAVERBEKE.

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : M. le Professeur REVOL, de la Faculté de Médecine.
Premier Assesseur : M. le Professeur TAPERNOUX, de l'Ecole Vétérinaire.
Deuxième Assesseur : M. le Professeur COLLET, de l'Ecole Vétérinaire

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.



L'expérience étant une source féconde et inépuisable de lumière, on ne saurait trop multiplier les recherches et les observations.

Règlement pour les Ecoles Vétérinaires de France

BOURGELAT,

A MES PARENTS

Avec toute ma reconnaissance et
ma tendresse filiale.

A MA SŒUR ET A MON FRÈRE

AUX MIENS ET A TOUS MES AMIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur REVOL
de la Faculté de Médecine de Lyon

Qui nous a fait le grand honneur
d'accepter la présidence de notre
jury de thèse.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur TAPERNOUX

Directeur de l'Ecole Vétérinaire de Lyon

Avec l'expression de notre respectueuse gratitude pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire.

Monsieur le Professeur COLLET

de l'Ecole Vétérinaire de Lyon

En reconnaissance pour la qualité de son enseignement et la sympathie qu'il a toujours témoigné à notre égard.

A Monsieur l'Agrégé MAGAT

Qui nous a inspiré ce travail et nous a guidé tout au long de son élaboration.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre vive gratitude.

A TOUS NOS MAITRES DE L'ECOLE DE LYON

INTRODUCTION

Le calcium et le potassium sont avec le sodium et le magnésium les quatre cations fondamentaux se trouvant dans le sang en quantité non infinitésimale.

Leur détermination pondérale est d'un grand intérêt :

- tant pour fixer de façon précise le taux de ces ions dans le sang et en connaître les variations physiologiques d'un individu à l'autre et chez un même sujet à différentes périodes de son existence ;
- que pour apprécier le retentissement de certains processus pathologiques sur l'équilibre ionique des humeurs.

En ce qui concerne le sérum des bovins, les valeurs moyennes citées par les auteurs ayant étudié cette question (Kohl en particulier [1]) sont les suivantes :

Ca	96 mg. par litre
K	180 mg. par litre
Na	3.540 mg. par litre
Mg	20 mg. par litre

Afin de pouvoir effectuer une étude statistique valable des résultats, un grand nombre de déterminations étaient nécessaires, ce qui exigeait une technique de dosage rapide et précise.

Jusqu'à présent, et en particulier pour le dosage des alcalins, l'analyste n'avait à sa disposition que des méthodes chimiques, précises certes, mais combien laborieuses, délicates et exigeant des manipulations longues et compliquées, d'où le petit nombre de mesures effectuées.

Or ces dernières années ont vu l'apparition d'un certain nombre d'appareils et de techniques nouvelles. Avec la spectrophotométrie de flamme, grâce à l'élégance, la simplicité et la rapidité des dosages, une ère nouvelle s'offre au laboratoire, à tel point que Domange [2] a pu écrire :

« L'utilisation de la photométrie de flamme semble « devoir modifier profondément les méthodes de travail. « Loin de fuir les métaux alcalins comme il le faisait jadis, « l'analyste les recherche au contraire pour titrer les ions « ou radicaux qui leur sont liés. »

Cependant, si la tâche du chimiste devient plus aisée, celui-ci ne doit pas oublier pour autant les servitudes et causes d'erreurs inhérentes à l'appareil et à son principe de fonctionnement : Problème des interférences et actions néfastes des produits présents dans l'échantillon, afin d'éviter une vulgarisation trop rapide qui se retournerait à tort contre la méthode.

Dans notre travail, nous nous sommes particulièrement penchés sur l'aspect technique des mesures de la calcémie et de la kaliémie chez les bovins par spectro-photométrie de flamme, en insistant sur tous les facteurs qui pourraient apporter une cause d'erreur.

Qu'il nous soit permis ici de remercier M. le Directeur Tapernoux qui nous a fait le grand honneur de nous ouvrir les portes de son laboratoire.

Nous exprimons nos sentiments de profonde gratitude à M. l'Agrégé Magat qui nous a inspiré le sujet de notre thèse et nous a suivi pas à pas, en prodiguant ses conseils bienveillants, lors de son élaboration.

Nous remercions également Mlle Gonnet, Ingénieur chimiste, pour son aide désintéressée aussi bien que précieuse.

PREMIERE PARTIE

GENERALITES SUR LA SPECTROPHOTOMETRIE DE FLAMME

CHAPITRE PREMIER

LA SPECTROPHOTOMETRIE DE FLAMME

1. Principe général

On sait que par excitation thermique de nombreux métaux, notamment les métaux alcalins et alcalino-terreux, émettent un spectre discontinu de raies. Le nombre et la position de ces raies dans l'échelle des longueurs d'ondes sont caractéristiques de l'atome émetteur et varient par conséquent avec la nature des éléments chimiques introduits.

C'est ainsi qu'en pulvérisant dans la flamme d'un mélange gazeux, stabilisée à une température convenable, une solution d'un sel métallique, on obtient un spectre de raies dont l'étude permet de caractériser le métal.

Il s'agit là d'une propriété atomique. Plus il y aura d'atomes excités par la flamme et plus intense sera la raie spectrale. Il s'ensuit que son intensité est fonction de la concentration de l'élément dans la solution, si celle-ci est vaporisée suivant un débit constant.

En recevant, après l'avoir séparée, la raie recherchée sur une cellule photoélectrique, on réalise le principe du

spectrophotomètre de flamme. Par comparaison entre la réponse de la cellule et celle obtenue pour une solution étalon dont on connaît les composants, on peut déterminer la concentration de l'élément dans la solution analysée.

On voit d'ores et déjà les immenses services que l'on peut attendre de la spectrophotométrie de flamme, tant d'ordre qualitatif, détection d'un élément dans un mélange, que d'ordre quantitatif, dosage précis de cet élément sans isolement préalable le plus souvent.

2. Historique

L'idée de la recherche qualitative de certains éléments en utilisant la flamme remonte à Kirchoff et Bunsen, en 1860. Par la suite, Mitscherlich s'attacha à prolonger la durée d'observation en utilisant une mèche de platine et Hartley permit de reconnaître les spectres de bande des métaux grâce au chalumeau oxhydrique.

Les premiers essais de mesure quantitative sont dus à Champion, Pellet et Grenier avec la création de leur « Spectronamètre ». L'intensité des raies était alors mesurée par comparaison visuelle de l'émission de la raie D du sodium dans deux flammes : l'une recevant une quantité connue de sodium et servant de témoin, l'autre étant alimentée par la solution à analyser.

Mais il se dégagea bien vite de la méthode deux impératifs :

- avoir un débit constant de gaz ;
- obtenir un mélange homogène entre le gaz et l'élément pulvérisé.

Gouy, le premier, apporta la solution à ces problèmes :

N.B. : Nous avons emprunté à la thèse de Rollet (3) bon nombre d'éléments techniques et de références bibliographiques. Nous prions le lecteur intéressé de bien vouloir s'y reporter.

- d'une part en pulvérisant grâce à de l'air comprimé le liquide à analyser et le répartissant ainsi de façon homogène dans la flamme ;
- d'autre part en régularisant le débit de gaz et en le contrôlant.

Il fallut cependant attendre les travaux de Lundegardh pour avoir la mise au point d'une méthode précise de dosage. Cet auteur put ainsi étudier en solution 32 éléments et préciser ceux qui étaient excitables : alcalins, alcalino-terreux et quelques métaux lourds. Depuis, les centaines de travaux effectués ont permis à la photométrie de flamme de faire des progrès considérables. La précision des appareils est aujourd'hui suffisante pour permettre à cette méthode de dosage de passer du seul domaine de la recherche à l'utilisation pratique et courante au laboratoire.

3. Constitution d'un spectrophotomètre.

Différents types d'appareils.

Un spectrophotomètre comprend essentiellement :

- un brûleur donnant une flamme suffisamment chaude et un dispositif d'injection dans celle-ci de la solution à étudier ;
- un montage optique permettant de disperser la lumière obtenue ;
- un système récepteur composé d'une ou plusieurs cellules photoélectriques avec leur circuit d'amplification et un galvanomètre pour mesurer l'intensité des radiations choisies.

a) Les brûleurs ont pour but de mettre en présence les gaz comburants et combustibles nécessaires à la production de la flamme. Ces mélanges peuvent être : gaz d'éclairage/air, butane/air, acétylène/air, acétylène/oxygène, hydrogène/oxygène.

La régularisation du débit est assurée par un groupe détenteur-manomètre. Il existe en outre divers systèmes de sécurité.

La nébulisation de la solution à analyser est provoquée par l'arrivée des gaz sous pression en haut d'un tube capillaire plongeant dans la solution. Suivant les appareils, le nuage se forme dans une enceinte précédant le brûleur ou directement dans la flamme.

b) Le montage optique.

La fente d'entrée rectiligne est réglable tant en hauteur qu'en largeur à l'aide de deux tambours moletés.

La sélection spectrale est assurée : soit par dispersion sur monochromateur qui n'est autre qu'un prisme à déviation constante dont la rotation fait défiler sur la fente de sortie les différentes images monochromatiques de la fente d'entrée ; soit par des filtres optiques convenablement choisis pour chaque élément à doser.

Dans cette dernière méthode les filtres transmettent une plus grande quantité de lumière et on gagne en sensibilité ce que l'on perd en sélectivité.

La fente de sortie a les mêmes côtes que la fente d'entrée. Ses lèvres sont cependant profilées à la courbure moyenne des raies spectrales.

Enfin un système optique collecteur dirige le faisceau de lumière chromatique sur le dispositif récepteur.

c) Le système récepteur comprend une ou plusieurs cellules photoélectriques suffisamment sensibles aux radiations choisies pour les dosages. Le plus souvent il y a deux cellules de sensibilité spectrale différente : une pour les courtes longueurs d'onde et une pour les radiations supérieures à 600 m μ . Certains galvanomètres, dits de zéro, ne sont pas gradués et mesurent potentiométriquement le courant produit. D'autres possèdent un circuit d'amplification permettant de lire directement les déviations du spot lumineux sur une échelle graduée.

Toutes les applications de la spectrophotométrie de flamme reposent sur la relation qui unit l'énergie lumineuse d'une raie d'émission à la concentration de la solution métallique pulvérisée dans la flamme. On cherchera donc à obtenir une proportionnalité entre cette concentration et la déviation du galvanomètre.

Appareil utilisé :

Nos mesures ont été effectuées sur un Unicam SP 900 dont le brûleur est alimenté par un mélange acétylène-air. La sélection des radiations se fait à l'aide d'un monochromateur. Quant aux fentes, elles sont simultanément réglables de 0 à 2 mm.

La radiation de longueur d'onde sélectionnée est entrecoupée au rythme de 100 périodes par seconde et reçue sur un photomultiplicateur fonctionnant dans le domaine de 250 à 850 m μ . Le courant fourni par ce photomultiplicateur est ensuite amplifié puis redressé et, après passage sur un certain nombre de filtres électriques destinés à éliminer les « bruits de fond », est reçu par un galvanomètre dont le spot lumineux se déplace devant une échelle comportant 100 divisions. Enfin la solution à analyser est pulvérisée à raison de 3 ml. par minute.

4. Quelques considérations générales sur l'emploi de l'appareil

a) Précautions d'utilisation.

La précision de l'appareil est basée sur un débit constant de gaz et une pulvérisation homogène du liquide. C'est pourquoi l'opérateur devra prendre des précautions que l'on a qualifiées de « bactériologiques », quant au contrôle de la pression des gaz, de la limpidité des solutions à analyser, de la pureté de l'eau distillée et de la propreté des conduits et du bec.

b) Fréquence de l'étalonnage.

Théoriquement, il suffirait alors « d'étalonner » le spectrophotomètre une fois pour toutes dans des conditions expérimentales bien définies. En fait, on constate que les écarts sont notables d'un jour à l'autre et au cours d'un même dosage. Chaque série de mesures sera donc obligatoirement encadrée par des essais parallèles effectués sur des solutions étalons connues. Cette exigence est d'autant plus impérieuse que l'appareil est plus sensible.

c) Préparation des échantillons.

Puisque le spectre d'émission d'un élément est une propriété liée aux atomes, il est en principe indépendant des combinaisons chimiques dans lesquelles se trouve engagé le métal. Il s'ensuit que la préparation des échantillons se limitera à une simple dilution.

d) Influence de la flamme.

Les études de Mavrodineanu et Boiteux [4] ont montré que la température maximum variait avec la forme de la flamme, avec sa hauteur, avec la vitesse de circulation du courant gazeux. La fente du spectrophotomètre devra être placée au-dessus du dard, car c'est la région de plus haute température, d'équilibre thermique et de rayonnement le plus intense.

D'autre part, il est évident que la flamme seule émet une énergie lumineuse (fond de flamme) qui se superpose à celle de la raie recherchée. Or l'intensité de ce fond de flamme croît comme le carré de la largeur de fente, alors qu'elle est simplement proportionnelle à sa hauteur. On aura donc intérêt à rétrécir la fente d'entrée, ce qui conditionne, par ailleurs, la pureté spectrale.

e) Limite de détection d'un métal.

On entend par limite de détection d'un métal, la quantité de métal susceptible de provoquer, à la longueur

d'onde considérée, une déviation du galvanomètre supérieure de une division à celle donnée par la flamme seule. Cette quantité est exprimée, soit en partie par million (p.p.m.), soit en milli-atomes grammes (m.at). Il est intéressant de déterminer cette limite de détection pour chaque métal avec l'appareil dont on dispose. Mais il faut toujours préciser les conditions d'ouverture de fente, la valeur du fond de flamme et la longueur d'onde choisie.

f) Sélection des raies d'émission.

Bien que l'excitation d'un métal par la flamme provoque généralement l'émission de plusieurs raies, on n'en utilise qu'une. Ce choix est basé sur l'intensité relative de cette raie par rapport aux autres et par rapport au fond de flamme, et sur l'élimination du voisinage indésirable d'une raie parasite appartenant à un métal présent dans la solution. Ainsi le calcium et le baryum sont impossibles à séparer autour de $550\text{ m}\mu$ où ils émettent l'un et l'autre une large bande lumineuse [5].

g) Amélioration de la sensibilité du spectrophotomètre.

Un premier moyen consiste à utiliser le galvanomètre dans sa sensibilité maximum. On peut d'autre part augmenter la hauteur de fente, ce qui augmente la luminosité de la raie mais aussi le fond de flamme. Lorsque l'on travaille avec des solutions très diluées, le plus simple est de régler le zéro du galvanomètre sur la flamme recevant par aspiration de l'eau distillée.

Kingsley et Schaffert [6] préconisent de mettre les métaux en solution dans un solvant organique ce qui augmente l'intensité de l'émission. Ces auteurs prétendent par ce moyen multiplier par 13 l'émission du potassium.

Sur certains appareils, il est possible d'augmenter la résistance des photos-tubes, ce qui améliore d'autant la sensibilité du spectrophotomètre.

Signalons enfin l'utilisation des multiplicateurs d'électrons qui permettent d'accroître l'intensité du courant émis par le phototube.

h) Phénomènes d'interférence.

Certaines substances initialement combinées ou mélangées au métal à doser ont une influence sur l'excitation de ce métal. Nous traiterons de ce problème dans le chapitre suivant.

5. Conduite des mesures

Après avoir ouvert les conduites de gaz et réglé convenablement leur pression, la flamme est allumée. L'appareil fonctionnant à l'eau distillée, chauffe ainsi pendant une demi-heure environ jusqu'à ce que ses réponses soient constantes pour une solution de référence donnée.

Il ne reste plus alors qu'à régler le monochromateur sur la longueur d'onde choisie pour l'élément à étudier, et à adopter une largeur de fente et une amplification telle qu'en remplaçant l'eau distillée par la solution à doser, le galvanomètre ait une déviation voisine de 50 graduations.

Les dilutions des échantillons ont été calculées de façon à se trouver dans un domaine où l'émission soit une fonction linéaire de la concentration.

Avant de passer aux mesures, il est nécessaire de construire une courbe d'étalonnage en utilisant des solutions standard à diverses concentrations de l'élément à étudier. Par tâtonnement, en jouant sur les différents réglages, on arrive à obtenir des déviations du spot lumineux proportionnelles à la quantité du métal à doser.

Dès lors l'appareil est en ordre de marche et l'on peut passer aux mesures proprement dites. Il suffit de présenter les échantillons et de lire les déviations correspondantes. Chaque mesure ne demande que quelques secondes. Le calcul des concentrations se fait aisément en se reportant à la droite d'étalonnage.

De temps en temps, toutes les 10 mesures environ, il est nécessaire de vérifier que la réponse de l'appareil n'a pas varié. Pour ce faire, on contrôle le point zéro et les déviations avec les différentes concentrations des solutions standard. S'il y a variation, il faut construire une nouvelle courbe d'étalonnage.

CHAPITRE II

FACTEURS MODIFIANT L'INTENSITE DES RAIES D'EMISSION. LE PROBLEME DES INTERFERENCES

1. Origine du phénomène — Etude générale

Le métal que nous avons à doser ne se trouve pas sous forme d'un sel simple en solution dans l'eau distillée, mais il entre le plus souvent dans un complexe dont les divers éléments pourront :

- soit donner des raies d'émission aux mêmes longueurs d'onde ou à des longueurs d'onde voisines de celles du métal étudié ;
- soit interférer avec le dit métal par suite d'une interaction au cours du processus d'excitation.

Ces phénomènes sont d'autant plus intenses que la solution à étudier est plus complexe. Or, un des principaux intérêts de la spectrophotométrie de flamme est justement de permettre un dosage sans isolements préalables. Il importe donc de bien connaître les interférences qui viennent fausser ces mesures.

1. INTERFERENCES MUTUELLES DE DEUX RAIES SPECTRALEMENT VOISINES.

Cet inconvénient n'est imputable qu'à une médiocre sélectivité du système optique. Il suffit le plus souvent de diminuer la largeur de fente jusqu'à une valeur déterminée par le calcul pour sélectionner la seule raie intéressante.

2. INTERFÉRENCES D'EXCITATION.

Ce sont les plus fréquemment observées et aussi les plus nuisibles.

a) *Interférences d'anions.*

α) Dues aux éléments ou radicaux liés au métal.

Des études ont été faites en mesurant successivement les réponses de l'appareil pour un métal donné entrant dans des combinaisons diverses (acétate, sulfate, chlorure...). Pour Gouy [7] l'intensité est indépendante de l'anion lié au métal en ce qui concerne les alcalins. Per Lungren [8] signale que pour le potassium, il existe au-dessus de 1.000 p.p.m. une action dépressive avec les ions nitrate, iodure et sulfate.

β) dues à l'addition d'acides.

En général les auteurs signalent une action dépressive des acides. Eggertsen [9] a montré, au moyen de microphotographies prises dans la chambre de nébulisation, que les acides intervenaient directement sur la dimension des particules du brouillard produit. Cependant une solution normale d'acide phosphorique augmente l'intensité des alcalins par son émission propre qui vient s'ajouter à la luminosité du fond de flamme.

En fait l'influence des acides est fonction :

- de leur nature ;
- de leur proportion dans la solution ;
- de la nature des métaux analysés.

b) *Influence de quelques substances organiques.*

L'émission des métaux alcalins est très notablement augmentée par les acides acétiques et trichloracétique. Il en est de même pour certains solvants organiques. C'est ainsi que Kingsley et Schaffert [10] ont proposé une méthode de dosage du sodium et du potassium en

solution acétono-acétique, méthode permettant de détecter ces métaux en quantité dix fois plus faible qu'en solution aqueuse.

L'action de l'alcool a été bien étudiée. Certes, il n'y a pas proportionnalité rigoureuse entre l'intensité lumineuse et la concentration de ce produit ; mais, dans des limites et pour une teneur en alcool donnée, l'émission reste proportionnelle à la concentration en métal de la solution. D'autre part les perturbations produites par ce solvant sont parfaitement reproductibles, ce qui n'est pas le cas pour certains sucres par exemple.

Les protéines contenues en proportion élevée dans certains milieux biologiques comme le sérum augmentent très sensiblement la radiation du fond de flamme.

Il semble cependant qu'avec les dilutions utilisées, les interférences dues aux substances organiques soient en général très faibles.

c) Interférences dues aux cations.

Une solution aqueuse d'un sel de potassium donne, pour une longueur d'onde convenable, une certaine déviation du galvanomètre. Si l'on ajoute à cette même solution des quantités variables d'un sel de calcium, on constate une augmentation importante de l'émission lumineuse allant dans le même sens que l'adjonction du sel. Or, si l'on mesure à la même longueur d'onde uniquement les solutions du sel de calcium, le déplacement du spot lumineux est infime. Ainsi, il n'y a pas eu addition des luminosités, mais interférence entre ces deux métaux. Ce phénomène, pour être général, n'en est pas moins très mal connu. Il existe bien peu de travaux expérimentaux envisageant l'ensemble du problème, les auteurs s'attachant le plus souvent à décrire les interférences rencontrées avec un milieu donné et ce, avec un appareil donné.

Il n'est pas dans notre propos d'en faire une étude systématique, ni d'en préciser le mécanisme. Nous n'abor-

derons ici qu'un aspect fragmentaire de la question intéressant la mesure du potassium et du calcium dans le sérum des bovins.

2. Etude particulière. Facteurs perturbant l'émission du potassium et du calcium

a) *En ce qui concerne le potassium*, l'action des anions est négligeable. Par contre les protéines rencontrées dans le sérum augmentent sensiblement la radiation du fond de flamme. Smit et Alkernade [11] ont montré que ces substances occasionnaient des erreurs par excès de l'ordre de 10 à 20 %. L'influence de ces protéines diminue avec la dilution et avec l'abaissement de la température de la flamme excitatrice (gaz de ville, butane ou propane).

Les cations, eux, ont une action particulièrement importante. Le sodium en est un des plus gênant, faussant les résultats par excès. Suivant le type d'appareil, l'interférence du sodium sur l'émission du potassium est plus ou moins marquée. Les auteurs s'accordent à dire que ces interférences augmentent avec la température de la flamme. Les erreurs produites vont de 5 % pour une flamme peu chaude (air-butane) à 25 et 30 % pour une flamme chaude (air-acétylène). Ainsi Dorche et ses collaborateurs [5] ont montré que l'excédent qui atteint 33 % pour un rapport Na/K de 28 avec un appareil air-acétylène, ne dépasse guère 5 % lorsque les mêmes solutions sont présentées à un appareil utilisant le butane. D'après Klyne [12], lorsque le rapport Na/K atteint 20, l'erreur entraînée est de 60 %. Il semble donc que les interférences dues aux cations augmentent avec la température de la flamme et avec les proportions relatives des deux métaux.

— Quant au calcium, d'après Woldring [13] il n'interfère pas dans l'émission du potassium. Per Lundgren [8] a signalé qu'aux concentrations inférieures à 50 p.p.m., il faut 5 fois plus de calcium que de potassium pour

qu'une interférence se manifeste ; et alors même elle ne dépasse pas 3 %. De toute façon, la proportion de potassium est plus du double de celle du calcium dans les sérums.

Les autres métaux contenus dans la solution sont à de faibles concentrations et suffisamment dilués, pour que leur présence soit négligeable.

b) *En ce qui concerne le calcium*, le problème est plus complexe. Les interférences avec les métaux alcalins sont ici notables, voire même très importantes, lorsque la flamme est peu chaude, et vont presque toujours dans le sens d'un déficit. Des expériences ont été tentées pour supprimer ces interférences, en traitant la solution par de l'acide chlorhydrique en quantité correspondante ou très légèrement supérieure à celle de l'acide combiné au calcium dans l'espoir de déplacer l'anion [14]. Ces essais sont demeurés vains.

L'influence des substances organiques est à peu près la même que pour le potassium. On note toutefois une diminution de l'amplitude d'émission si la flamme est peu chaude.

L'action du sodium augmente avec la température de la flamme. Il semble cependant que le mécanisme soit très différent de celui qui joue dans l'interaction des métaux alcalins.

3. Conséquences pratiques

Les interférences peuvent agir sur les mesures en provoquant des erreurs plus ou moins importantes par excès ou par défaut. Il convient de noter que les études faites à ce propos sont rarement concordantes, car ces interférences sont variables avec la complexité de la solution, mais surtout avec le type d'appareil employé.

On doit en conclure que l'analyse se devra de noter les interférences apparaissant sur son appareil pour une

substance donnée, et de mettre au point lui-même un protocole d'utilisation.

Pour éliminer ces interférences, on utilise divers procédés que nous allons maintenant décrire.

4. Corrections des interférences

a) Interférences des raies voisines.

Il suffit d'employer des fentes suffisamment fines afin d'augmenter la sélectivité spectrale. On peut compenser la luminosité perdue en augmentant la hauteur de fente.

b) Interférences anioniques et cationiques.

— On pourrait par des séparations physiques ou chimiques antérieures obtenir une solution de l'élément à l'état presque pur ou du moins débarrassé des ions gênants. Mais on perdrait là un des avantages les plus appréciés de la spectrophotométrie de flamme, à savoir la simple dilution des solutions à étudier.

— Une des méthodes les plus utilisées est celle des étalons adaptés. On ajoute alors aux solutions de référence, outre les quantités variables de l'élément à doser, tous les autres éléments minéraux à la concentration moyenne où ils existent dans l'échantillon. Il faut donc connaître à priori le taux des composants entrant dans la solution ce qui est le cas pour les sérums.

— Lorsqu'il existe un domaine de concentration défini par une limite supérieure et une limite inférieure où l'interférence est constante et indépendante de la concentration en éléments gênants, on peut ajouter aux solutions à doser et aux solutions d'étalonnage la quantité suffisante d'éléments interférents pour se placer dans ce domaine.

— Certains auteurs utilisent la méthode dite « des tampons ». Ils ajoutent aux échantillons à doser et aux

solutions étalons une même concentration de sel du métal interférent, concentration très supérieure à celle que possédait primitivement la solution à doser. Ainsi l'influence de la concentration initiale peut être négligée. En fait, cette façon de raisonner n'est pas satisfaisante, car l'interférence ne tend pas vers une limite mais croît régulièrement avec le rapport des éléments.

— Une autre méthode rapportée par Rollet [3] semble intéressante.

Envisageons par exemple le dosage du Na dans un échantillon de BrK ; la méthode consiste à comparer l'émission à 589 m μ d'une solution aqueuse de BrK à la concentration de 50 meq de K ‰, avec l'émission d'un sel de K purissime (teneur en Na très faible), à la même longueur d'onde, à la même concentration en K et auquel on a ajouté des quantités connues et croissantes de Na. Le résultat du dosage ne fournira que la limite inférieure de la teneur en Na du BrK, puisque cette teneur est rapportée à des étalons, qui contiennent outre le Na réellement ajouté, celui déjà présent dans le sel de K purissime de référence. Toute la difficulté consiste à se procurer des sels de référence de pureté parfaitement définie.

— Méthode des « tampons de radiation ».

Porter [15], dans ses récents travaux, utilise le chlorure de lithium comme tampon et montre que l'addition de 500 à 1.000 p.p.m. de Li diminue de 50 % la perturbation causée par le K sur le dosage du Na. Outre le fait qu'elle exige des sels de Li très pur, cette technique est peu retenue, car elle ne supprime pas complètement les interférences.

— Méthode par extrapolation d'Osborn et Johns [16]. Soit à doser le Na dans un milieu liquide quelconque. On ajoute à la solution des quantités croissantes et connues de Na et l'on vérifie pour 4 concentrations que la relation entre les concentrations en Na et la lumière émise est une relation linéaire. Il suffit alors d'extrapoler.

La méthode que nous allons maintenant décrire se rapproche beaucoup de celle-ci.

— Méthode de l'addition standard proposée par Harrison [17], dont le principe est le suivant :

Soit X la concentration du métal à doser dans la solution (exprimée par exemple en p.p.m.).

Pour la longueur d'onde caractéristique λ , le galvanomètre indique une déviation D_1 . Ajoutons à cette solution une quantité connue S de l'élément à doser, la déviation indiquée est D_2 .

Dans la mesure où la réponse de l'appareil varie linéairement avec la concentration, on peut écrire :

$$\frac{D_1}{D_2} = \frac{X}{X+S}$$

Or, il existe un fond de flamme donnant une déviation D_m dont il faut tenir compte. On effectue deux mesures de part et d'autre de la longueur d'onde λ : $\lambda + d\lambda$ et $\lambda - d\lambda$ ($d\lambda = 3$ à $5 \text{ m } \mu$). La moyenne D_m des deux mesures donne par interpolation la valeur du fond de flamme. Alors on peut écrire :

$$\frac{X}{X+S} = \frac{D_1 - D_m}{D_2 - D_m}$$

$$\text{d'où l'on tire } X = \frac{S(D_1 - D_m)}{D_2 - D_1}$$

Il est évident que pour que cette formule soit valable, il faut que D_m soit faible par rapport à D_1 ($D_m < \frac{D_1}{50}$)

Cette méthode très élégante, puisqu'elle néglige les concentrations initiales des éléments, a quand même l'inconvénient d'exiger quatre mesures, et un calcul.

c) Interférences provoquées par la présence de substances organiques.

Lorsque l'on ajoute de l'alcool ou de l'acide aux échantillons, il est facile d'en porter la même quantité dans les solutions étalons.

Mais le problème se complique en ce qui concerne les protéines contenues dans un sérum.

Certains auteurs utilisent la « déprotéination », c'est-à-dire qu'ils font précipiter les protéines avec de l'acide trichloracétique [3]. Cette méthode, outre les manipulations qu'elle demande puisqu'elle exige la même quantité d'acide dans les solutions étalons, élimine du dosage le métal contenu dans les complexes organiques, d'où causes d'erreurs par défaut.

Le plus simple reste d'utiliser dans les solutions de références un sérum étalon moyen. Ce sérum étalon a été réalisé pour l'homme. Sous licence américaine, le « Lab-Trol » (ND) est défini comme étant un sérum artificiel qui se comporte comme un sérum réel et normal dans un certain nombre de dosage. C'est un témoin stable à traiter de la même manière que le sérum que l'on utilise simultanément.

Peut-être pourrions-nous employer ce produit dans les analyses de sérums de bovins, ou mieux, fabriquer artificiellement un sérum étalon pour cette espèce. Toujours est-il que les mesures sont effectuées la plupart du temps avec des étalons de référence inorganiques, négligeant ainsi les protéines du sérum. Il nous a paru intéressant d'étudier quelle était en fait l'influence de ces protéines et de déterminer un coefficient de correction s'il en était nécessaire. Cette étude fera l'objet de notre deuxième partie.

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

CHAPITRE PREMIER

INFLUENCE DES PROTEINES SERIQUES. FACTEUR DE CORRECTION POUR LE POTASSIUM ET LE CALCIUM

1. Objet de l'expérimentation

Nous avons pour but de vérifier les conséquences sur la réponse du photomètre de flamme, de la présence dans les sérums des éléments organiques, absents des solutions étalons ; d'autre part, de déterminer l'importance de l'erreur commise en calculant les concentrations d'après la courbe d'étalonnage en solution purement minérale, et en déduire un coefficient de correction k .

En d'autres termes, une concentration C_1 lue sur la courbe d'étalonnage devra être corrigée par un facteur k pour calculer la concentration réelle C_2 de l'élément étudié dans le sérum.

2. Raisonement adopté dans le cas général

En portant en abscisse la concentration C de l'élément minéral étudié dans l'échantillon et en ordonnée les déviations D du galvanomètre, il nous est possible de construire la courbe M obtenue par mesure des étalons minéraux. Les déviations étant proportionnelles aux concentrations, cette courbe est une droite.

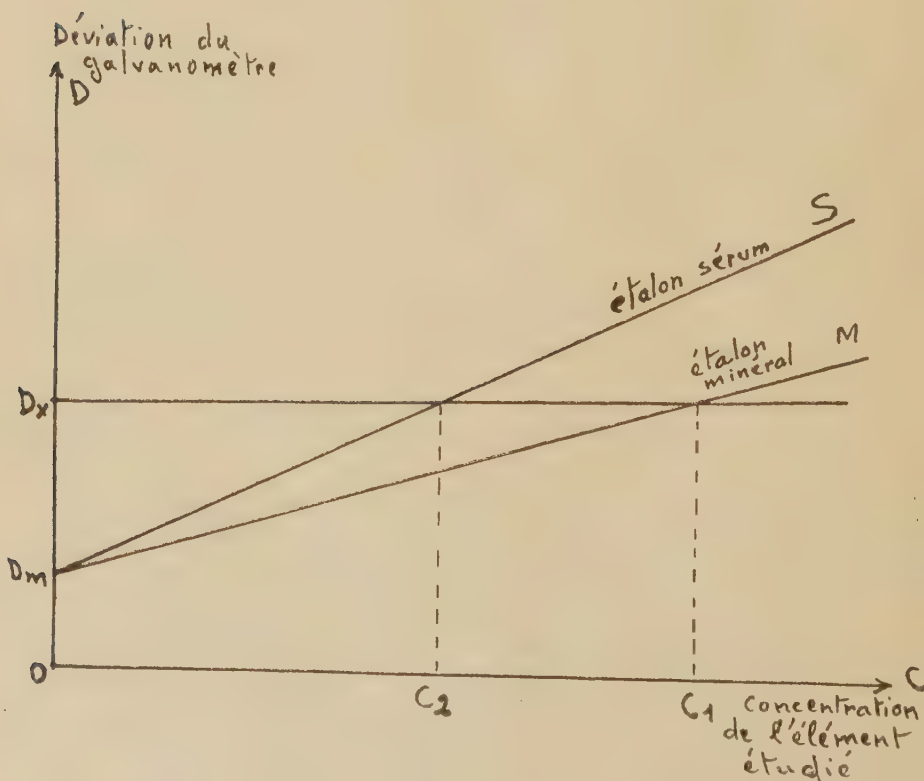
Il est probable que les protéines contenues dans le sérum interfèrent avec le métal étudié. En conséquence, la courbe réelle qui devrait nous servir de référence, comme étalon organique, est vraisemblablement une droite S, mais à coefficient angulaire différent et certainement supérieur comme nous l'avons montré dans notre première partie.

Lorsque $C = 0$, la déviation D_m représente la valeur du fond de flamme. En première approximation nous pouvons considérer que cette valeur est la même pour les deux courbes, les déviations dues à l'apport de luminosité des protéines seules étant négligeables par rapport aux valeurs mesurées.

L'équation générale des courbes est :

$D = mc + D_m$ en solution inorganique.

$D = ac + D_m$ en solution organique.



Pour une déviation Dx lue sur le galvanomètre, on peut écrire :

$$m C_1 = a C_2$$

$$\text{D'où l'on tire } C_2 = \frac{m}{a} C_1$$

m et a étant respectivement les coefficients angulaires des droites M et S .

$$\text{Donc } k = \frac{m}{a} = \frac{C_2}{C_1} \text{ est une valeur constante}$$

Il s'ensuit qu'à chaque valeur C_1 , on peut rapidement par un simple calcul passer à la valeur réelle C_2 , en appliquant la formule $C_2 = k C_1$

5. Conduite de l'essai

a) Principe.

Si l'établissement de la droite d'étalonnage en solution minérale ne posait pas de problèmes, il n'en était pas de même pour définir la courbe en solution organique.

En effet, il ne nous est guère possible de soustraire au sérum des quantités connues d'un sel métallique. Par contre nous pouvons facilement en ajouter.

D'autre part, l'application de la méthode de l'addition standard nous donne la valeur exacte du métal contenu dans la solution organique et par là même un point de la courbe.

L'adjonction de quantités déterminées du même métal permet alors d'obtenir d'autres points, et de vérifier si tous ces points sont bien situés sur une droite. Par extrapolation, le reste de la droite peut alors être tracé.

Pour mener à bien cet essai, nous avons procédé de la manière suivante pour le potassium et le calcium :

— Tracé de la courbe d'étalonnage en solution minérale ;

Tracé réalisé avec des solutions standard contenant, outre des quantités croissantes de chaque élément à doser, une concentration constante des autres ions égale à la concentration moyenne habituellement rencontrée dans le sérum, à savoir :

Sodium	3540 mg par litre
Potassium	180 mg par litre
Magnésium	20 mg par litre
Calcium	96 mg par litre

Phosphore (sous forme d'ions PO_4H) 81 mg par litre.

— Choix d'un sérum moyen.

Ce sérum devant représenter l'étalon, nous avons mélangé à volumes égaux les sérums de 30 bovins différents.

— Détermination de la teneur réelle du métal dans la solution organique par la méthode de l'addition standard, en appliquant la formule démontrée plus haut (se reporter page 30) :

$$X = S \frac{(D_1 - D_m)}{D_2 - D_1}$$

— Etablissement de la courbe en milieu organique en procédant à diverses surcharges.

— Comparaison avec la courbe d'étalonnage minéral.

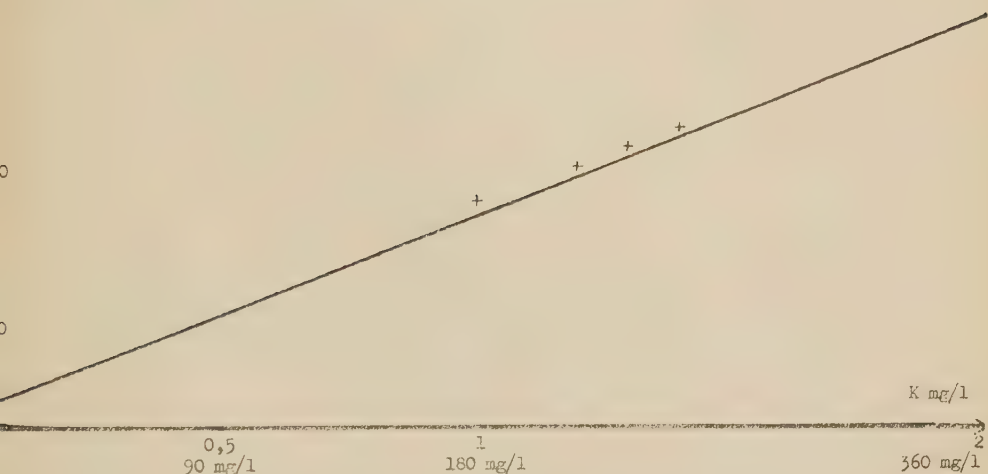
Enfin, détermination d'un coefficient k si nécessaire.

b) Résultats dans le cas du potassium. Courbe I.

— Réglage de l'appareil :

λ	=	776
air	=	21
gaz	=	6
gain	=	4,1
fente	=	0,08
filtre	=	4

éviation



— Etablissement de la courbe étalon minéral classique.

La droite a été définie par 4 points correspondants à 4 concentrations choisies dans des rapports simples. Ainsi

1
K (0), K (—), K (1), K (2) contiennent respectivement 0, 90,
2

180, 360 mg. de potassium par litre ; les autres éléments étant apportés aux concentrations moyennes indiquées. Ces

1
solutions furent diluées au — dans un mélange eau-
100

alcool à 20 %, après avoir ajouté 0,2 % d'acide chlorhydrique (acide concentré d = 1,19 dilué au 1/2).

(Nous nous expliquerons sur ces adjonctions dans le chapitre suivant).

Les déviations correspondantes furent : 3, 22, 42, 83.

La mesure du potassium dans le sérum moyen à l'aide de cette courbe donne alors : 189 mg. par litre.

— Teneur réelle du sérum par la méthode de l'addition standard.

Le sérum fut dilué dans les mêmes proportions et avec les mêmes produits que les solutions minérales, à savoir :

sérum 0,5 ml.
 mélange { alcool 20 ml.
 { eau Q s 100 ml. 50 ml.
 acide chlorhydrique 0,1 ml.

$$D_1 = 45 ; \quad D_m = 3 ; \quad X = S \frac{36}{D_2 - 45}$$

S étant la surcharge apportée par une certaine quantité d'une solution minérale à 180 mg. de potassium par litre.

D_2 étant la déviation correspondante.

S en mg/l	D_2	X
36	52	0,5142
54	56	0,4909
72	60	0,4800

Moyenne de X : $0,4950 \pm 0,02$

0,02

Précision — = 3 %

0,495

Conclusion :

0,5 ml. de sérum équivalent à 0,495 ml. de solution à 180 mg. de K/litre, le sérum titré donc :

1. Par la méthode habituelle : 189 mg./l.
2. Par l'addition standard : $0,495 \times 2 \times 180 = 178,2$ mg/l.

— Etablissement de la courbe en milieu organique :

Le sérum contenant réellement 178,2 mg./l. de potassium et donnant alors une déviation $D_1 = 45$, il est facile de tracer un premier point de la courbe.

Trois autres points sont obtenus par les surcharges successives, comme il est indiqué dans le tableau.

Nous pouvons ainsi vérifier que ces points sont alignés et qu'en première approximation la courbe est bien une droite, droite qu'il ne reste plus qu'à tracer.

Etant donné que les deux courbes minérales et organiques sont proches l'une de l'autre, nous avons préféré dans notre dessin (courbe I) ne faire figurer la droite sérum que par les 4 points qui la définissent.

— Le coefficient de correction est alors :

$$k = \frac{178,2}{189} = 0,94$$

c) Résultats dans le cas du calcium. Courbe II.

— Réglage de l'appareil :

λ	=	423,8
air	=	27
gaz	=	14
filtre	=	3
fente	=	0,08
gain	=	2

— La courbe étalon minérale est tracée en employant

	1		3
4 solutions Ca (0), Ca (—), Ca (1), Ca (—), contenant res-			
	2		2

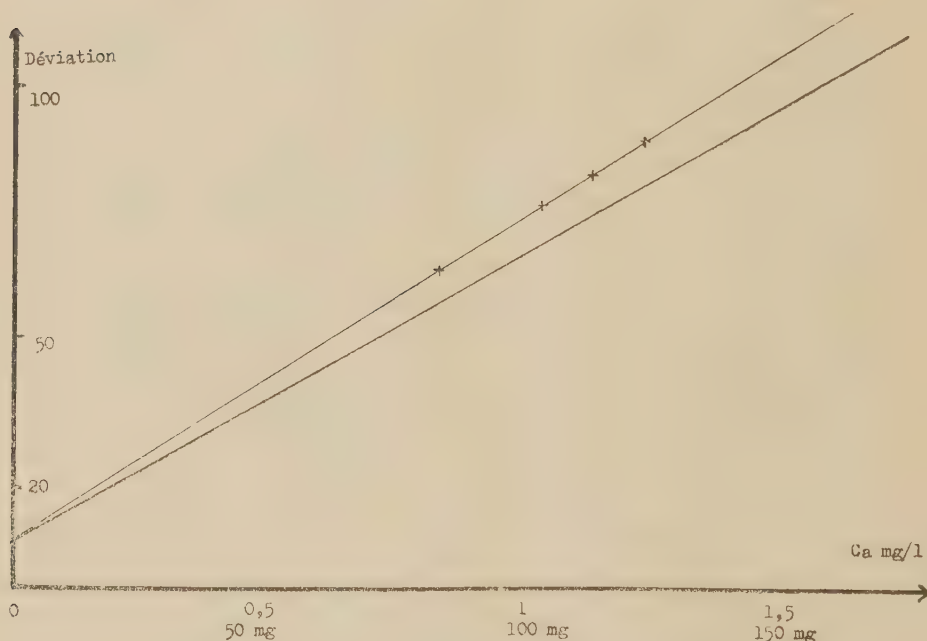
pectivement 0,50, 100 et 150 mg. de calcium par litre.
Comme précédemment les autres éléments sont apportés
à leur concentration moyenne et la dilution effectuée au

1

— dans un mélange eau-alcool à 20 %, sans oublier

100

0,2 % de Cl H.



Les déviations correspondantes sont alors :

9, 37, 66 et 96.

En se référant à cette droite, nous obtenons une teneur
en calcium du sérum de 96 mg./l.

— Par la méthode de l'addition standard, selon la
même technique que pour le potassium :

$D_1 = 63$ et $D_m = 9$

S en mg/l.	D _a	X
20	76	0,4150
30	82	0,4263
40	89	0,4154

Moyenne de X 0,4189 ± 0,0074

0,007

Précision $\frac{\quad}{0,419} = 2 \%$

Conclusion :

0,5 ml. de sérum équivalent à 0,420 de solution à 100 mg. de calcium par litre, le sérum titre donc :

1. Par la méthode habituelle : 96 mg./l.

2. Par l'addition standard : 84 mg./l.

— Etablissement de la courbe en milieu organique :

Connaissant la teneur réelle en calcium du sérum soit 84 mg./l. et la déviation correspondante $D_1 = 63$, nous obtenons un premier point. Les autres sont tracés grâce aux surcharges et aux déviations correspondantes.

Ces points sont alignés et la droite ainsi définie semble assez différente de la droite minérale.

— Le coefficient de correction est alors :

$$k = \frac{84}{94} = 0,89.$$

d) *Conclusions.*

L'erreur introduite en calculant les teneurs en potassium et en calcium des sérums, en se référant à un étalonnage en solution purement minérale, est assez importante pour que l'on tienne compte d'un facteur de correction.

Les valeurs exactes C_2 seront calculées :

pour le K $C_2 = 0,94 C_1$

pour le Ca $C_2 = 0,89 C_1$

Ces résultats étant acquis, nous avons procédé à une série de mesures visant à préciser la kaliémie et calcémie des bovins.

CHAPITRE II

APPLICATION DES RESULTATS PRECEDENTS AUX MESURES DU POTASSIUM ET DU CALCIUM DANS LES SERUMS

Après une série de mesures effectuées de façon classique, c'est-à-dire en se référant à des étalons en solution purement minérale, nous avons utilisé le facteur de correction k afin d'avoir la teneur exacte du sérum.

1. Considérations générales sur :

a) *La préparation et la conservation des sérums.*

A la suite de Mollet [18], nous avons eu la possibilité de disposer d'un assez grand nombre de sérums fournis par le Docteur Vétérinaire Fontaine (I.F.F.A.), que nous tenons à remercier ici.

Ces sérums proviennent de 32 bovins mâles de race normande, âgés de 16 à 24 mois, en bonne santé, nourris exclusivement de foin de prairie.

Chaque animal a fait l'objet d'une prise de sang tous les mois. Après coagulation du sang, les sérums ont été obtenus par centrifugation et conservés au réfrigérateur jusqu'à utilisation.

Pour le dosage proprement dit, les sérums furent dilués avec de l'eau distillée au 1/100^e pour le dosage du potassium et du calcium.

Afin d'obtenir un nombre suffisant d'échantillons avant de mettre l'appareil en marche, il nous fallait abandonner ainsi les flacons quelques jours à la température du laboratoire.

Or, très souvent, les solutions se troublaient par précipitations et développements microbiens, risquant ainsi de fausser les mesures et de boucher les conduits du spectrophotomètre.

Pour faciliter la solubilisation de certains sels (comme les sels de calcium), nous avons procédé à l'addition d'acide chlorhydrique. Mais alors, l'acidification du milieu organique facilitait la pousse des levures.

L'adjonction d'un certain pourcentage d'alcool semble résoudre le problème :

- en jouant un rôle antiseptique très net ;
- en aidant à la solubilisation de certaines substances ;
- et en améliorant la sensibilité de l'appareil, amélioration due sans doute à l'augmentation de la température de la flamme, donc à un gain de luminosité comme le montre l'expérience suivante :

1

Partant des solutions K (0), K (—), K (1), K (2) utilisées

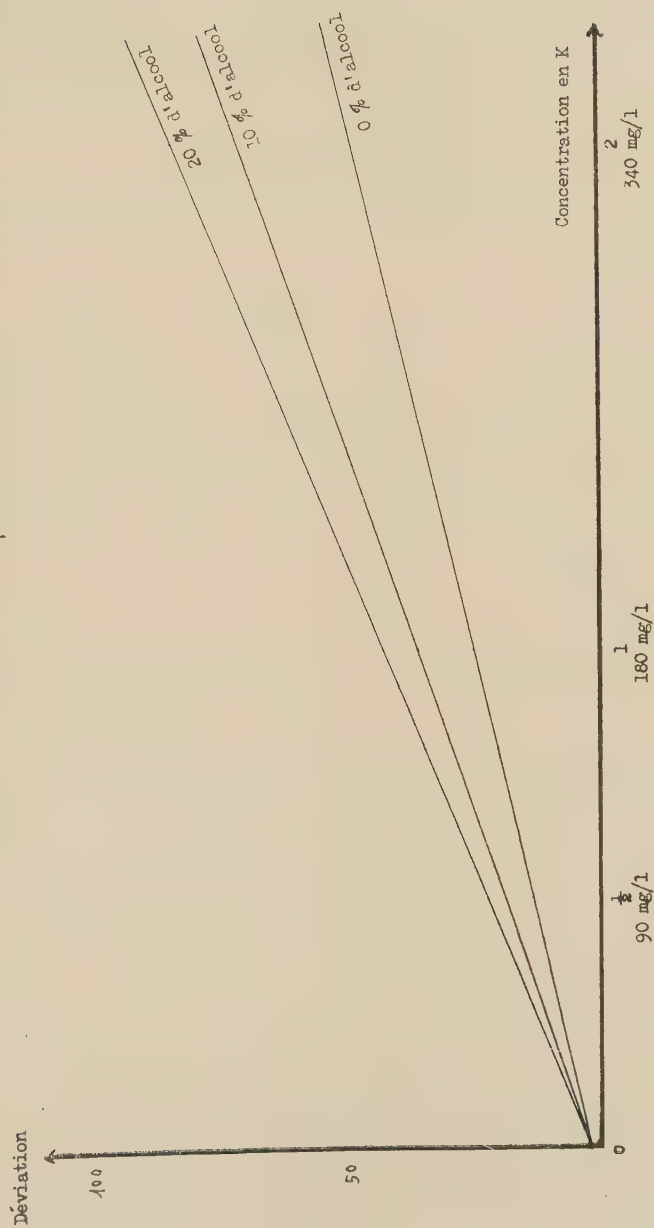
2

pour l'étalonnage de l'appareil, les mesures ont été effectuées après avoir ajouté 10 %, puis 20 % d'alcool. Les déviations obtenues furent les suivantes :

K alcool	0 %	10 %	20 %
K (0)	2	2	2
$K \left(\frac{1}{2} \right)$	13	19	22
K (1)	25	36	43
K (2)	49	72	84

D'où la courbe III.

Courbe III - Influence de l'alcool



Ainsi, en faisant intervenir dans la dilution 0,2 % d'acide chlorhydrique et 20 % d'alcool, nous obtenions des échantillons limpides, tout à fait aptes aux mesures par spectrophotomètre de flamme et se conservant plus longtemps.

La plupart des dosages de potassium, antérieurs à ces observations, furent réalisés sans alcool.

Par contre les essais de la colonne N° 6, ainsi que les mesures concernant le calcium, furent effectués avec 20 % d'alcool.

b) La Préparation des solutions d'étalonnage.

Comme il a été indiqué plus haut, la droite d'étalonnage en solution minérale pour un élément a été définie par 4 points correspondants à 4 concentrations choisies dans des rapports simples avec les concentrations moyennes des éléments minéraux contenus dans le sérum. Soit :

Composition des solutions standard.

Rapports aux concentrations moyennes :

— potassium (mg/l.)

— calcium (mg/l.)

0	1/2	1	3/2	2
0	90	180	-	360
0	50	100	150	

Les solutions standard ont été facilement obtenues à partir de solutions de base décrites par Tapernoux et Magat [19] et selon la même technique.

Il est évident que les dites solutions furent diluées au même taux que le sérum et avec les mêmes constituants.

2. Résultats

En ce qui concerne le potassium, les 188 mesures effectuées sont mentionnées dans le Tableau I. La moyenne générale obtenue est de 198 mg./l.

Si nous appliquons la formule $C_2 = k C_1$, faisant ainsi intervenir le coefficient correctif $k = 0,94$, on obtient alors une teneur réelle du sérum de 186 mg. par litre de potassium.

Pour le calcium, nous n'avons effectué que 32 mesures reproduites dans le tableau II avec une moyenne de 121 mg./l. Le coefficient k correspondant étant de 0,89, la teneur du sérum en calcium est de 108 mg. par litre.

TABLeau I

Kaliémie en milligrammes par litre de sérum

Prise de sang Animal	N° 1 (7.4.59)	N° 2 (5.5.59)	N° 3 (9.6.59)	N° 4 (9.7.59)	N° 5 (6.8.59)	N° 6 (3.9.59)	Moyennes
1	178	230	212	230	187	171	202
2	203	182	198	220	203	180	198
3	167	196	187	194	171	184	183
5	178	187	218	211	182	171	191
6	167	178	207	205	171	184	185
7	182	221	203	245	203	198	209
8	185	162	187	230	166	189	187
9	164	207	227	241	196	203	206
10	207	227	232	216	234	171	215
11	200	221	218	216	218	189	210
12	182	187	234	211	171	180	194
13	200	182	209	236	160	180	194
14	194	182	176	230	221	189	199
15	227	218	209	236	198	198	214
16	155	198	212		176	153	179
17	184	178	218	236	171	171	193
18	212	182	218	230	166		202
19	218	193	209	225	193	171	201
20	189	207	212	225	176	180	198
21	155	196	218	185	166	184	184
22	175	211		241	185	184	199
23	175	206	209	230	175	166	193
24	184		203	230	191	176	197
25	180	200	176	220	185	157	186
26	212	166	198	223	200	171	195
28	180	198	187	234	164	180	191
29	230	212	229	259	200	176	218
30	178	173	187	212	229	176	193
31	178	182	212	229	216	189	201
32	236	198	234	234	200	184	214
33	187	187	234	229	191	157	197
34	167	187	171	223	205	162	186
Moyennes	188	195	208	225	190	178	198
Maximum							259
Minimum							153
Ecart type							23

TABLEAU II
CALCÉMIE EN MILLIGRAMMES PAR LITRE DE SÉRUM

Prise de sang animal	Calcium	Animal	Calcium
1	115	19	126
2	115	20	118
3	137	21	114
5	127	22	125
6	122	23	117
7	138	24	123
8	123	25	122
9	120	26	120
10	110	27	125
11	125	28	120
12	123	29	114
13	121	30	123
14	128	31	128
15	119	32	109
16	114	33	114
17	121	34	116
		Moyenne	121
		Maximum	138
		Minimum	109
		Ecart type	6,5

3. Commentaires

Les valeurs obtenues sont en accord satisfaisant avec des résultats précédemment publiés, notamment avec ceux de Mollet [18] opérant par spectrophotométrie de flamme avec la méthode des étalons adoptés, mais sans introduire de coefficient de correction ; et ceux de Kohl [1] opérant par voie chimique (méthode de Chambon).

Ces commentaires se trouvent résumés dans le tableau comparatif suivant :

Kaliémie	selon Kohl	selon Mollet	Selon nos résultats	
			directs	corrigés
Valeur moyenne en mg/l.	180	202	198	186
Maximum	230	274	259	243
Minimum	154	152	153	143
Ecart type	22	18	23	22
Indice de dispersion	0,122	0,089	0,116	0,116

CONCLUSIONS

1. — La spectrophotométrie de flamme constitue une technique très utile en biochimie pour la détermination de certains éléments minéraux, et particulièrement des métaux alcalins et alcalino-terreux. Son principal avantage réside dans la simplicité et la rapidité des manipulations. Pour l'étude des sérums animaux, il suffit, en effet, de procéder à une simple dilution des échantillons.

2. — Néanmoins, cette méthode offre des causes d'erreurs systématiques qui reposent, principalement, sur un phénomène d' « interférences », dont nous avons donné l'origine et décrit les principaux moyens propres à en éliminer les effets.

En particulier, la méthode dite « des étalons adaptés » permet d'éviter les interférences dues aux autres cations que celui que l'on désire doser, sans introduire aucune complication dans le protocole des mesures. Elle laisse cependant persister un facteur d'interférence que nous rapportons aux protéines.

3. — Nous avons montré qu'il est possible d'introduire un facteur de correction pour cette dernière interférence. Nous l'avons déterminé expérimentalement, et dans les conditions de nos mesures (sérums dilués au 1/100^e avec un mélange eau-alcool à 20 %, acidifié par l'acide chlorhydrique), nous avons trouvé les valeurs suivantes :

0,94 pour le potassium et 0,89 pour le calcium.

4. — Ensuite, nous avons déterminé la teneur en potassium et en calcium d'un certain nombre de sérums, provenant de 34 bovins en bonne santé.

Les 220 mesures réalisées (188 pour le potassium et 32 pour le calcium), ont permis d'obtenir :

- les valeurs moyennes pour la kaliémie et la calcémie de 198 et 121 mg. par litre,
- soit respectivement 186 et 108 mg. par litre, en appliquant les coefficients de correction précédemment établis.

Ces dernières valeurs sont en parfait accord avec les données classiques établies par des méthodes chimiques.

Vu : LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
TAPERNOUX.

Vu : LE DIRECTEUR
DE L'ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE,
A. TAPERNOUX.

Vu :
LE DOYEN
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE,
A.-H. HERMANN.

Vu :
LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
REVOL.
PROFESSEUR
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE.

Vu et permis d'imprimer : Lyon, le 1^{er} Juin 1961
LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
P. LOUIS

BIBLIOGRAPHIE

2. DOMANGE (L.) et LONGUEVALLE (Mlle S.). — *Ann. pharm. franç.*, 1951, 9, 647.
14. DORCHE (J.) et COSTET (Mlle C.). — *Ann. pharm. franç.*, 1956, 14, 669-676.
5. DORCHE (J.), ROLLET (M.) et COSTET (Mlle C.). — *Ann. pharm. franç.*, 1955, 13, 283-297.
9. EGGERTSEN (F.-T.). — A.S.T.M. Technical Publication n° 116, juin 1951, 52, cité par ROLLET.
7. GOUY (A.). — *C. R. Acad. Sci.*, 1877, 85, 70.
17. HARRISON (G.-E.). — Determination of Calcium in Biological Materials. *Unicam instruments CTD. Method sheet* n° 900-1.
6. KINGSMEY (G.-R.) et SHAFFERT (R.-R.). — *J. Biol. chem.* 1954, 206, 807.
10. KINGSLEY (G.-R.) et SHAFFERT (R.-R.). — *Science* 1952, 116, 359.
12. KLYNE (W.). — *Spectroch. Acta*, 1950, 64, cité par DORCHE et ROLLET.
1. KOHL (P.). — Etude comparée de la composition chimique du sang des mammifères domestiques et de laboratoire. Thèse pharmacie, Paris, 1950.
4. MARODINEANU (R.) et BOITEUX (H.). — L'analyse spectrale quantitative par la flamme. Masson, édit., Paris, 1954.
18. MOLLET (J.). — Détermination de la natrémie et de la kaliémie du bœuf par photométrie de flamme. Thèse Doct. Vétér., Lyon, 1960.

16. OSBORN (G.-H) et JOHNS (H.). — *The Analyst* 1911, 76, 410, cité par ROLLET.
8. PER LUNDGREN. — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1953, 511.
15. PORTER (P.). — *Analyst Chem.*, 1955, 27, 733.
3. ROLLET (M.). — Etude critique de quelques applications analytiques de la spectrophotométrie de flamme et de la fluorescence. Thèse Doct. Etat (Pharm.), Lyon, 1955.
11. SMIT (J.) et ALKERNADE (C.). — *Bioch. Bioph. Acta* 1951, 6, 508, cité par ROLLET.
19. TAPERNOUX (A.) et MAGAT (A.). — Détermination par photométrie de flamme de la natrémie et de la kaliémie normale du bœuf. *Société de Biologie de Lyon*, 28 nov. 1960.
13. WOLDRING (M.-G.). — *Anal. Chem. Acta*, 1953, 8, 150, cité par DORCHE et ROLLET.

TABLE DES MATIERES

Introduction	11
--------------------	----

PREMIERE PARTIE

Généralités sur la spectrophotométrie de flamme....	13
---	----

Chapitre premier

La spectrophotométrie de flamme	13
---------------------------------------	----

Chapitre II

Facteurs modifiant l'intensité des raies d'émission. Le problème des interférences	23
--	----

DEUXIEME PARTIE

Recherches personnelles	33
-------------------------------	----

Chapitre premier

Influence des protéines sériques. Facteur de correction pour le potassium et le calcium....	33
---	----

Chapitre II

Application des résultats précédents aux mesures du potassium et du calcium dans les sérums	43
---	----

Conclusions	51
-----------------------	----

Bibliographie	53
-------------------------	----

